Lane Medical Library

Aus dem physiologischen Institut der
Universität zu München

Abbau von Hexosen durch die lebende Zelle.

Inaugural-Dissertation

zur
Erlangung der Würde eines Doktors der Zahnheilkunde
verfaßt und
einer hohen medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Alfons Föckersperger
Zahnarzt
aus Vilshofen a. D.

Verlag von der Buchdruckerei Fuchs, Berchtesgaden
1932

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München.

Gutachter: Professor Dr. Hahn

Tag der mündlichen Prüfung: 26. Februar 1932

Geheimrat Professor Dr. Wessely
dz. Dekan

Lebenslauf.

Bin geboren am 10. Februar 1908 zu Vilshofen a. D. als Sohn des Kaufmanns Karl Föckersperger und seiner Ehefrau Maria Amalie, geb. Hirtreiter. 5 Jahre besuchte ich die dortige Volksschule. Im Jahre 1919 kam ich an das humanistische Gymnasium nach Passau, wo ich im März 1928 meine Reifeprüfung ablegte. Dann widmete ich mich dem Studium der Zahnheilkunde. Nach 7 Semestern bestand ich im Herbst 1931 an der Universität zu München meine zahnärztl. Staatsprüfung mit der Note „sehr gut" und erhielt die Approbation als Zahnarzt.

Gewidmet meinen lieben Geschwistern!

Sowohl die Abbauprozesse von Hexosen durch Mikroorganismen, bezw. durch die von diesen erzeugten Enzyme, als auch die Abbauprozesse von Hexosen durch tierisches Gewebe haben schon immer das Interesse des Chemikers und Biologen erregt. Man wusste auch schon früh von dem Verlauf dieser Prozesse und ihren Endprodukten, aber über die dabei auftretenden Zwischenprodukte herrschte lange Zeit keine Klarheit. Als solche kommen in Frage:

Glycerinaldehyd
Dioxyaceton
Methylglyoxal
Brenztraubensäure
Acetaldehyd.

Die folgende Abhandlung soll nun feststellen, wem es zuerst gelungen ist, solche Produkte bei der

alkoholischen Gärung
Milchsäuregärung

und beim

Zuckerabbau im Organismus

zu isolieren und in Substanz zu fassen.

I. Glycerinaldehyd.

Was den Glycerinaldehyd betrifft, so ist über sein intermediäres Auftreten beim Zuckerzerfall durch Hefeenzym kein sicherer Nachweis bekannt. Es gelang lediglich E. Buchner[1]) über die Gärfähigkeit des reinen Glycerinaldehyds positive Resultate zu erzielen. Diese Gärfähigkeit wird jedoch von S. Kostytschew[2]) bestritten. Seine mit reinen Hefepräparaten durchgeführten Versuche zeigten, daß Glycerinaldehyd nicht zu gären vermag und daher als intermediäres Produkt bei der **Gärung** ausscheidet. Auch das intermediäre Auftreten von Glycerinaldehyd bei der Milchsäuregärung ist nur eine Hypothese, die A. Wohl[3]) aufgestellt hat. Ebenso ist nicht durch Isolierung der Verbindung erwiesen, ob Glycerinaldehyd eine Zwischenstufe beim Zuckerabbau im Organismus bildet. Embden[4]) und seine Mitarbeiter glauben jedoch, diesen Körper als erstes Zwischenprodukt des Glukoseabbaues ansprechen zu müssen. Sie haben den Glycerinaldehyd auf seine Milchsäurebildung hin untersucht, indem sie ausgewaschenen, roten Blutkörperchen Glycerinaldehyd zusetzten.

Dieser steigert in der Tat die Milchsäurebildung mehr als Traubenzucker und Dioxyaceton. Ebenso wird nach ihren Untersuchungen Glycerinaldehyd in der künstlich durchströmten Leber sehr leicht in Milchsäure verwandelt. All [5]) diese Tatsachen, daß der Traubenzuckerabbau über Milchsäure führt und zwar über d—Milchsäure, und daß Glycerinaldehyd unter denselben Bedingungen wie Traubenzucker, aber sehr viel mehr wie dieser, Milchsäure bildet, läßt sie zu der Annahme kommen, daß Glycerinaldehyd ein Zwischenprodukt beim Traubenzuckerabbau im Tierkörper sei. Für den Tierkörper ist zum mindesten damit bewiesen, daß der Organismus ein Ferment besitzt, das auf Glycerinaldehyd eingestellt ist. Die Annahme als Zwischenprodukt ist also **sehr** wahrscheinlich.

II. Dioxyaceton.

Auch Dioxyaceton wurde früher als Zwischenglied beim Zuckerabbau in Betracht gezogen. So behauptet P. Boysen-Jensen[6]) Dioxyaceton als Methylphenylglycerosazon[7]) nachgewiesen zu haben, wenn Glukose durch Hefe vergoren wird. Frances Chick[8]) dagegen konnte das Auftreten von Dioxyaceton unter den von Jensen beschriebenen Bedingungen nicht beobachten. Früher schon haben E. Buchner und M. Meisenheimer[9]) die Gärfähigkeit von Dioxyaceton eingehend geprüft. Da sie ebenso wie Lebedew[10]) die Vergärbarkeit bestätigen konnten, neigten sie zu der Annahme, daß diese Triose ein Zwischenprodukt des Zuckerzerfalls darstellt. Harden und Young[11]) bestreiten die intermediäre Bildung von Dioxyaceton, weil es langsamer vergoren wird als Zucker. Neuerdings haben O. L. Fischer und Carl Taube[12]) mit frischer untergäriger Bierhefe der Schultheiß-Patzenhofer-Brauerei-Berlin eine 2%ige Dioxyaceton-Lösung im Laufe von 36 Stunden bei 23—24° zu 80% vergären können, wobei die Gärung bereits nach einer halben Stunde eintrat. Ob Dioxyaceton ein Zwischenprodukt bei der Glykolyse bildet, ist vorerst unbekannt.

III. Methylglyoxal.

Wohl am wichtigsten für das Verständnis der Vorgänge beim Abbau von Hexosen war die einwandfreie Festlegung des Methylglyoxals. Die hypothetische Annahme der intermediären Bildung des Methylglyoxals bei der alkoholischen Gärung reicht bis auf A. Wohl[13]) und Nef[14]) zurück. Seit dieser Zeit bemühte man sich, diesen Körper abzufangen, was lange nicht gelang. Zum ersten Mal glauben S. Kostytschew und S. Soldatenkov[15]) mit Semicarbazid reichliche Ausbeuten von Methylglyoxal erhalten zu haben. Die Versuche wurden in 4 Kolben durchgeführt mit je 1 Liter 10%iger Rohrzuckerlösung und 30 gr. abgepresster Froberghefe. Nach $2\frac{1}{2}$ Stunden wurde ein jeder Kolben mit 75 ccm einer mit Na_2CO_3 neutral gemachten Lösung von 15 gr. Semicarbazidchlorhydrat

in destilliertem Wasser versetzt. Die Kolben wurden in einem Thermostaten bei 25° belassen. Nach 70 Stunden wurde der Versuch abgebrochen. Das Gärgut wurde erhitzt, filtriert und das Filtrat auf 350 ccm eingeengt und stehen gelassen. Nach 15 Stunden hat sich ein krystalliner Niederschlag abgeschieden, der nach dem Auswaschen bei 254—255° schmolz. Die Ausbeute betrug 8,5 gr. Alle Eigenschaften der erhaltenen Substanz waren identisch mit denen des von S. Kostytschew und S. Soldatenkov synthetisch dargestellten Disemicarbazons des Methylglyoxals. Der Schmelzpunkt des synthetischen Disemicarbazons ist 256°, der der umkristallisierten reinen Substanz aus dem Gärgut 256—257°.

Diese Angaben der beiden Autoren konnte von C. Neuberg und M. Kobel[16]) nicht bestätigt werden. Daraufhin sahen sich Kostytschew und Soldatenkov[17]) veranlaßt, ihre Versuche zu wiederholen, erhielten aber nunmehr nicht die geringsten Mengen von Methylglyoxaldisemicarbazon. Trotzdem haben wohl S. Kostytschew und S. Soldatenkov als erste Methylglyoxal bei der alkoholischen Gärung nachgewiesen. Jedoch fehlte ihrer Methode die nötige Sicherheit. Ein sicheres Verfahren brachten zum ersten Male C. Neuberg und M. Kobel[18]).

Aus der Versuchsreihe sei ein Ansatz erwähnt. Er besteht aus 2,5 Liter Fermentlösung, die aus Patzenhofer Bierhefe hergestellt war, 1,1 Liter m/10 hexose—di—phosphorsaueres Magnesium, 2,9 Liter Wasser, 20 gr. Ca CO_3 und 100 ccm Toluol. Es wurden so 5 Ansätze bereitet. Zur Isolierung diente zunächst p—Nitro—Phenylhydrazin, was sich aber nicht als verlässig erwies. Sie fanden dann ein besseres Fällungsreagens in dem 2,4—Di—Nitrophenylhydrazin. Dieses liefert sofort das schwer lösliche Methylglyoxal — 2,4 — di — Nitrophenylosazon. Die Ausbeute an rohem, bei etwa 250° schmelzenden Methylglyoxal — 2,4 — di — Nitrophenylosazon betrug beim obigen Versuch 4,7 gr. Im Verlaufe ihrer Arbeiten[19]) gelang es ihnen, die Hefezymase in 2 Komponenten zu zerlegen, die sie Cozymase und Apozymase nannten. Sie trennten die Apozymase, soweit das möglich ist, von der Cozymase und gingen von der Voraussetzung aus, daß Apozymase den durch Cozymase vorbereiteten Zucker zum Zerfall bringen kann. Da die Apozymase für sich aber weder zu phosphorylieren noch zu dismutieren vermag, ergibt sich die Notwendigkeit, als Substrat für die Apozymase Hexosediphosphat zu verwenden. Die Apozymase spaltet das Hexosediphosphat bis zum Methylglyoxal. Methylglyoxal selbst wird von Apozymase nicht angegriffen. Neuberg und Kobel erzwingen mit diesem Verfahren eine reichliche Ansammlung von Methylglyoxal.

Ein Verdienst S. Kostytschews und S. Soldatenkovs[20]) ist es, als erste 1927 den Nachweis dafür erbracht zu haben, daß Methylglyoxal auch beim Zuckerzerfall unter Einwirkung der Erreger der

Milchsäuregärung auftritt. Sie setzten zu ihrer Nährlösung aus 1,5 Liter Molken mit 7,5 gr. Pepton, 7,5 gr. NaCl und 32 gr. $CaCO_3$, 32 gr. Semicarbazidchlorhydrat. Der Milchzuckergehalt betrug 4,5 %. Als Versuchsobjekt wählten sie das Bakt. caucasicum. Sie erhielten 2 Substanzen, wovon die eine (etwa 1,5 gr.) identisch war mit den Eigenschaften des Disemicarbazons des von ihnen synthetisch dargestellten Methylglyoxals. Die Substanz schmolz bei 256 °, einem Schmelzpunkt, den auch das synthetische Methylglyoxaldisemicarbazon hatte. Erwähnt soll noch Neubergs letzte Arbeit auf diesem Gebiete sein. Es gelang C. Neuberg und M. Kohel[21]) jedoch erst später, gleichfalls bei der Milchsäuregärung Methylglyoxal in Form seines Bis — di — nitrophenyl — hydrazons zu isolieren. Als Erreger wählten sie den Baz. Delbrücki, als Substrat hexose — di—phosphorsaures Magnesium. Aus den 6 Bilanzversuchen ergibt sich, daß im Durchschnitt 83,2 % des aus dem Hexose—di—phosphat abgespaltenen Zuckers als Methylglyoxal isoliert wurden. Von der reichen Ausbeute abgesehen, verdient die Arbeit Neubergs und Kobels noch in einer anderen Hinsicht Erwähnung. Die beiden Autoren erzielten nämlich die Isolierung von Methylglyoxal nicht nach dem Abfangverfahren, sondern, wie sie mitteilten, handelt es sich um den einfachen Vorgang der Anhäufung unter Bedingungen, welche einen weiteren Abbau durch die Zelle unmöglich machen.

Auch bei der Glykolyse ist kein unmittelbarer Übergang von Traubenzucker zu Milchsäure vorhanden, sodaß schon Wohl[22]) und Neuberg[23]) Methylglyoxal als Zwischenprodukt annahmen. Es gelang dann auch im Laufe der Zeit der Nachweis dieses Körpers beim Abbau von Glukose durch Leber, Nieren, Muskel, sowie durch rote und weiße Blutkörperchen. So konnte 1923 Toenniessen[24]) bei Untersuchungen über die Acetaldehyd-Bildung im Säugetierorganbrei auch Methylglyoxal in minimalen Spuren nach der von Denigès[25]) angegebenen Farbreaktion nachweisen. Später hat Toenniessen[26]) gemeinsam mit W. Fischer seine Untersuchungen wieder aufgenommen. Sie konnten die Bildung von Methylglyoxal erkennen und feststellen, wenn sie der Suspensionsflüssigkeit 1 %iges fructosediphosphorsaures Natrium zusetzten. Der eigentliche Nachweis von Methylglyoxal erfolgte nach Denigès durch Farbreaktion und Spektrum und zweitens als Osazon mit p—Nitrophenylhydrazin[27]). Über diese Arbeit äussert sich Barrenscheen[28]). Er verweist einmal auf die geringe Zuverlässigkeit der Denigè'schen Reaktion bei biologischem Material[29]), ferner auf die so geringen Mengen, daß von einer Analyse der Substanz abgesehen werden mußte. In derselben Weise erwiderte auch M. Vogt[30]).

Von günstigen Ergebnissen über das Auftreten von Methylglyoxal als intermediäres Spaltungsprodukt bei der Glykolyse des Blutes berichtet H. K. Barrenscheen[31]). Nachdem er festgestellt hatte,

daß Semicarbazid die Glykolyse des Blutes nicht hemmt, setzte er zu 150 ccm Hundeblut, 0,6 ccm 10%ige Glucose-Lösung und 1 gr. Semicarbazidchlorhydrat hinzu. Dieser nur als Beispiel angeführte Versuch ergab eine Ausbeute von 14 mgr. Disemicarbazon. Die erhaltenen Mengen erlaubten neben der Schmelzpunktbestimmung auch eine einwandfreie Identifizierung durch die Analyse. Doch konnten C. Neuberg und M. Kobel[32]) bei Wiederholung der Barrenscheen'schen Versuche mit Hunde- und Pferdeblut keine positiven Resultate erzielen. Damit ist jedoch Barrenscheen noch nicht widerlegt.

Wenn man so die voranstehenden Kritiken über Toenniessens[33]) und Barrenscheens[34]) Ergebnisse betrachtet, muß man zugeben, daß ein sicherer Nachweis über die Entstehung des Methylglyoxals bei der Glykolyse fehlt. Einen sicheren Nachweis für das Auftreten des Methylglyoxals beim Abbau von Glukose durch Organe brachte M. Vogt[35]). Ein Teil der Versuche wurde dabei mit Alkohol—Äther—Trocken—Präparaten von Schweineleber und Schweinniere, der Rest mit frischer Leber und Niere und Muskelgewebe ausgeführt, nachdem diese vorher im Brutschrank digeriert wurden. Den Versuchen ging eine sterile Vorbereitung der Organe und eine Abschwächung ihres Coferments voraus. Das entstandene Methylglyoxal wurde als 1,4—Bis—di—Nitrophenylhydrazon gefällt. Im Anschluß daran erfolgten zahlreiche Elementaranalysen. Nach den beiden Bilanzversuchen ergibt sich für die Ausbeute 17,9% und 27,4% des umgesetzten Zuckers. Ihr Ergebnis faßt sie wie folgt zusammen: „Mit diesen Versuchen ist der direkte und einwandfreie Nachweis des Auftretens von Methylglyoxal bei der tierischen Glykolyse erbracht und hiermit, wie für andere glykolytische Prozesse in der Natur, das Methylglyoxal als das wichtige Durchgangsglied im Gärungsstoffwechsel auch der tierischen Organe gekennzeichnet".

Die weittragende Bedeutung, die der Auffindung des Methylglyoxals als Zwischenglied des Zuckerabbaues zukommen mußte, hatte auch E. Widmann[36]) veranlaßt, Methylglyoxal auch bei der Glykolyse durch Blutkörperchen festzustellen. Eine Grundbedingung für einen erfolgreichen Versuch sah er darin, das Coferment der Blutkörperchen zu schwächen bezw. soweit zu entfernen, daß eine weitere Verarbeitung des aus Hexose—di—phosphat entstehenden Methylglyoxal nicht möglich ist. Aus den Versuchen mit Blutkörperchen des Pferdes, des Hammels und des Kaninchens ergab sich eine Ausbeute an Methylglyoxal, die 75% des umgesetzten Zuckers ausmacht. E. Widmann und E. Schneider[37]) haben auch Versuche mit Menschenblut angestellt. Aus ihren Versuchen geht hervor, daß auch im menschlichen Blut der Gang der Glykolyse genau so verläuft, wie es für das untersuchte Hammel-, Pferde- und Kaninchenblut festgestellt war. Auch Diabetikerblut zeigte keine

Abweichung, ebenso nicht hämolysierte Blutkörperchen. Die beiden Autoren untersuchten dann auch die einzelnen Bestandteile des Blutes bei der Glykolyse. Es stellte sich heraus, daß die glykolytische Fähigkeit der Erythrozyten und Leukozyten fast gleich groß ist, nur im günstigsten Falle die der Leukozyten 20 mal größer. Hierbei wurde bei den weißen Blutkörperchen eine Ausbeute von 71,5 % an Methylglyoxalhydrat erzielt, bei den roten Blutkörperchen belief sich die Ausbeute auf 70,3 % des umgesetzten Zuckers.

IV. Brenztraubensäure.

Eine nicht unwichtige Rolle beim Zuckerabbau durch die lebende Zelle spielt die Brenztraubensäure. O. Neubauer[38]) hat zuerst im Jahre 1910 ihre Vergärbarkeit durch Hefe gefunden. Später konnte dann auch Brenztraubensäure beim Zuckerabbau durch Mikroorganismen und tierisches Gewebe sicher und einwandfrei nachgewiesen werden. Schon Fernbach und Schœn[39]) glaubten, Brenztraubensäure unter den Produkten der Zuckerspaltung gefunden zu haben. Sie stellten Versuche an mit und ohne Kreidezusatz. Kohlensaurer Kalk sollte nämlich genügen, um die intermediäre Bildung der Brenztraubensäure sicher zu stellen. Als Nachweis der Brenztraubensäure oder ihrer Salze benützten sie alkalische Jodlösung[40]). Die Versuchsreihe mit Kalk ergab tatsächlich nach 5 Tagen 2,216 gr. Jodoform, nach 10 Tagen 2,446 gr., nach 24 Tagen 1,1 gr. Jodoform. Die Kulturen ohne Kalkzusatz lieferten nicht die geringsten Spuren von Jodoform. Bei einer Nachprüfung der Angaben von Fernbach und Schœn mit zwei reinen Kulturhefen konnte M. v. Grab[41]) keine positiven Resultate finden, obwohl er sich in allen Einzelheiten an die Vorschriften der obengenannten Autoren gehalten hatte. Ausserdem ist von Grab auch der Auffassung, daß die Angaben der genannten Forscher nicht die typische Hefegärung betreffen. Ebenso konnte J. Kerb[42]) die Angaben von Fernbach und Schœn nicht bestätigen. Er hat allerdings mit deutschen Hefen die Versuche angestellt, aber es ist ihm nicht gelungen, auch nur einen qualitativen Nachweis von Brenztraubensäure bei der Vergärung von Zucker in Gegenwart von Calciumcarbonat zu bringen. A. Lebedew[43]) hat zwar bei Wiederholung der Versuche von Fernbach und Schœn Brenztraubensäure erhalten, aber nur in so geringen Mengen, daß es ihm zweifelhaft schien, ob sie aus dem angewandten Zucker stamme. Auch er hat wie Kerb mit einer anderen Hefe gearbeitet. Erwähnt sei auch noch C. Neubergs und E. Färbers[44]) Kritik über das Verfahren von Fernbach und Schoen: „Leider ist uns eine Verwirklichung dieses Versuches mit deutschen Hefen nicht gelungen und jene Behauptung muß zunächst auch befremdlich erscheinen, da Calciumpyruvinat erstens löslich und zweitens selbst weiter vergärbar ist". Ebenso konnten S. Kostytschew und L. Frey[45])

nach dem Verfahren von Fernbach und Schoen Brenztraubensäure nicht nachweisen. Gustav Klein und Walter Fuchs[46]) konnten zwar bei Überprüfung der Untersuchungen Fernbachs und Schœns in einem Versuche durch Änderung des Säuregrades eine Menge von 0,08 gr. Brenztraubensäure gewinnen, aber dieser Ansatz war, wie sich zeigte, durch Bakterien verunreinigt. Trotz mehrfacher Wiederholung gelang es ihnen auch nicht mehr, Brenztraubensäure zu isolieren. Fernbachs und Schoens Resultate dürften daher wohl auch nicht ganz sicher sein.

Auch M. v. Grab[47]) suchte einen sicheren Nachweis für das intermediäre Auftreten von Brenztraubensäure bei der alkoholischen Gärung zu liefern. Er bediente sich dabei der Döbnerschen[48]) Synthese. Bei Verarbeitung von 180 gr. Rohrzucker erhielt er im Höchstfalle 7,3 gr. der α—Methyl—ß—naphtocinchoninsäure. Gustav Klein und Walter Fuchs[49]) fanden an obiger Methode verschiedene Mängel: „Für eine Abfangung aus vitaler Gärung kommt sie so wenig in Betracht wie zur Identifizierung der nach anderen Verfahren evtl. abgefangenen Brenztraubensäure. Auch bei der zellfreien Gärung muß man das an und für sich feststehende Ergebnis in seiner Bedeutung für die Erkenntnis des vitalen Zuckerabbaues insofern vorsichtiger bewerten, als die für diese Reaktion nötigen Bedingungen immerhin weitgehend von normalen Bedingungen abweichen". A. Lebdew[50]) konnte die Resultate von v. Grab nicht bestätigen.

Nach all dem haben Kostytschew und Soldatenkov[51]) recht, wenn sie von ständigen Uneinigkeiten bezüglich der intermediären Bildung der Brenztraubensäure bei der alkoholischen Gärung sprechen. Den strikten Nachweis sollten sie selbst liefern. Das gelang ihnen mittels der Semicarbazidmethode[52]). Sie haben 10 Versuche mit Zuckerzusatz und mehrere ohne Zuckergabe ausgeführt. In der Versuchsreihe mit Zuckergabe konnte immer leicht Brenztraubensäuredisemicarbazon entdeckt werden, die nicht mit Zucker versetzten Portionen lieferten nicht die geringsten Mengen von Brenztraubensäuredisemicarbazon. Damit steht also zunächst fest, daß Brenztraubensäure in erster Linie bei der Zuckervergärung entsteht. Im Folgenden sei kurz ein Versuch angeführt. Verwendet wurden dazu 3 Liter einer 10%igen Rohrzuckerlösung mit 75 gr. reiner abgepresster Hefe. Diesem Gärgut wurden dann nach 24 Stunden eine Lösung von 18 gr. Semicarbazidchlorhydrat neben einer äquivalenten Menge von Natriumacetat hinzugesetzt. Nach 72 stündigem Stehenlassen wurden dann noch 8 gr. Calciumcarbonat, sowie 18 gr. Semicarbazidchlorhydrat und Natriumacetat zugegeben. Die Gärung dauerte fast 3 Wochen. Nach Beendigung der CO_2 Entwicklung wurde das Gärgut erhitzt, filtriert und gereinigt. Nachdem die Lösung bei 12 mm und 40° auf 60 ccm eingeengt war, entstand sofort ein krystallinischer Niederschlag, der sich nach 15 Stunden ver-

größerte. Aus dem Calciumsalz wurde das freie Semicarbazon durch Säure freigemacht und erwies sich sofort als analysenrein. Die Ausbeute betrug 3,2 gr. G. Klein und W. Fuchs[53]) kommen bei Wiederholung obiger Versuche zu negativen Resultaten. Es dürfte wohl ein Irrtum sein, wenn Klein und Fuchs[54]) bei der Abhandlung über Brenztraubensäure eine Mitteilung S. Kostytschews und S. Soldatenkovs[55]) erwähnen, in der gar nicht von Brenztraubensäure, sondern von Methylglyoxal bei der alkoholischen Gärung gesprochen wird. Auf dieses scheinbare Versehen macht auch P. Eliasberg[56]) aufmerksam. Kostytschew[57]) hat nun das Verfahren von Klein und Fuchs nachgeprüft, mußte es aber als untauglich ablehnen. Die beiden Autoren haben nämlich das Gärgut nach dem Einengen direkt mit p—Nitrophenylhydrazin versetzt und somit das Abfangverfahren prinzipiell geändert. Auf diese Weise ist aber nach Kostytschew ein Nachweis der Brenztraubensäure unmöglich. Kostytschews und Soldatenkovs[58]) Resultate wurden übrigens später mittels ihrer eigenen Methode von P. Eliasberg[59]) bestätigt. Nur hat Letzterer Brenztraubensäure nicht in Form von Semicarbazon, sondern in Form von Phenylhydrazon analysiert. Auch C. Neuberg und M. Kobel[60]) gelang es, allerdings n a ch Kostytschew, Brenztraubensäure bei der Hefegärung zu isolieren.

S. Kostytschew und S. Soldatenkov[61]) konnten auch bereits 1927 einen sicheren Nachweis für die intermediäre Bildung der Brenztraubensäure bei der M i l c h s ä u r e - G ä r u n g liefern, jedoch zunächst nur bei der Gärung von Bakterium caucasicum. Es sei hier noch einmal auf einen Versuch zurückgegriffen, der schon bei Methylglyoxal erwähnt wurde. Zu diesem Versuche wurden verwendet: Eine Nährlösung, die aus 1,5 Liter Molken mit 7,5 gr. Pepton, 7,5 gr. NaCl und 32 gr. $CaCO_3$ bestand. Der Milchzuckergehalt betrug 4,5 %. Die Lösung wurde sterilisiert und mit 50 ccm einer 72 stündigen reinen Kultur von Bact. caucasicum geimpft. Im Verlaufe der ersten 3 Gärungstage wurde eine wässerige Lösung von 32 gr. Semicarbazidchlorhydrat zugesetzt, nachdem sie vorher mit Natriumcarbonat neutralisiert wurde. Die Gärung war nach 14 Tagen beendet. Das Gärgut wurde zum Sieden erhitzt, heiß filtriert, im Vakuum eingeengt, das Calcicum mit Oxalsäure quantitativ gefällt und filtriert, das Filtrat im Vakuum auf 200 ccm eingeengt, 2 Tage mit Äther extrahiert um Milchsäure- und Oxalsäureüberschuß zu entfernen und über Nacht stehen gelassen. Der entstandene kristallinische Niederschlag wurde abgesaugt, in heißem Wasser gelöst und fraktioniert krystallisiert. Resultat: 2 Fraktionen. Die eine Substanz, die in diesem Falle nur interessiert, betrug etwa 4 gr. Sie war sauer, ihre Eigenschaften waren identisch denjenigen des von Kostytschew und Soldatenkov dargestellten **Brenztraubensäuresemicarbazons.** Die Substanz schmolz bei 215—216°. Das reine

Präparat von Brenztraubensäuresemicarbazon zeigte denselben Schmelzpunkt. Später ist es S. Kostytschew, W. Gwaladse und P. Eliasberg[62]) auch gelungen, Brenztraubensäure bei der Gärung von anderen Mikroorganismen, welche Zucker in Milchsäure verwandeln, zu erhalten, somit bei Gärung von B. Delbrücki und von Bact. lactis acidi Leichm., was mit der Semicarbazidmethode früher nicht möglich war. Denn nur Bact. caucasicum allein konnte den Zucker in Gegenwart von Semicarbazid glatt vergären, während die anderen Milchsäuregärungserreger in Gegenwart von Semicarbazid nicht die Gesamtmenge des vorhandenen Zuckers vergären. Diese Schwierigkeit behob eine von P. Eliasberg[63]) gefundene Methode. Doch braucht hier nicht darauf eingegangen werden.

Auch der wichtige Nachweis der Brenztraubensäure im tierischen Organismus ist durch die Arbeiten von A. Hahn[64]) und Mitarbeitern erbracht. Zunächst war es ihnen gelungen, bei der Dehydrierung der verschiedensten Stoffe im Muskel Brenztraubensäure nachzuweisen und zwar in ziemlich großen Mengen. Für dieses Thema, die Zwischenstufen beim Zuckerabbau im Organismus zu ermitteln, sind besonders die Versuche bedeutsam, die A. Hahn und Mitarbeiter mit Fructosediphosphorsäure und Lactacidogen anstellten. Die Verfasser[65]) verwendeten beim Abbauversuch von Fruktosediphosphorsaurem Natrium einerseits ausgewaschenen Muskelbrei und andererseits nicht ausgewaschenen Muskelbrei, setzten zu diesen beiden Fruktorsediphosphorsaures Natrium und fingen die entstehende Brenztraubensäure als Semicarbazon ab und isolierten sie als Phenylhydrazon. Zugleich wurde bei dem ersteren Versuch festgestellt, daß der Abbau der Fructosediphosphorsäure nicht über Milchsäure geht, da das Muskelpräparat keine Milchsäuredehydrase mehr enthält. Die Versuche mit unausgewaschener Muskulatur unterscheiden sich von den eben erwähnten nur insoferne, als die Brenztraubensäureausbeute wesentlich größer ist. Die Verfasser konnten gleichzeitig noch zeigen, daß freie Fructose unter den gleichen Bedingungen nur eine sehr geringfügige Bildung von Brenztraubensäure zeigt, somit einen neuen Beweis für die schon aus anderen Versuchen zu erschließende Tatsache erbringen, daß die Hexosen erst nach Veresterung mit Phosphorsäure von den Zellfermenten angegriffen werden. Es wurden zum Teil sehr beträchtliche Mengen an Brenztraubensäurephenylhydrazin erhalten. Das erhaltene Phenylhydrazon zeigte ohne Umkristallisieren bereits den richtigen Schmelzpunkt und konnte analysiert werden.

V. Acetaldehyd.

Der Acetaldehyd wurde am frühesten als Zwischenstufe beim Zuckerabbau erkannt. Schon 1912 teilte S. Kostytschew[66]) mit, daß es ihm gelungen sei, bei der alkoholischen Gärung in Gegenwart von $ZnCl_2$ ziemlich beträchtliche Mengen von Acetaldehyd abzu-

tangen. Derartige Versuche hat jedoch schon früher Löb[67]) ausgeführt und zwar mit Ammoniak, Anilinwasser und Phloroglucin, wobei er durchaus negative Resultate erhielt. Das $ZnCl_2$ hat aber nach S. Kostytschew[68]) den großen Vorzug, daß es bereits in sehr geringen Mengen eine kräftige polymerisierende Wirkung auf Aldehyd ausübt. Schon seine Vorversuche, bei denen Hefanol (Trockenhefepräparat) Traubenzucker, Toluol verwendet wurden, wiesen nur bei Anwesenheit von $ZnCl_2$ Aldehydreaktionen auf, nicht aber bei $MgCl_2$ und $CaCl_2$. Wichtig ist auch noch die Feststellung, daß S. Kostytschew bei der Selbstgärung keine Spur von Aldehyd fand. Zu seinen Hauptversuchen verwendete er wieder Hefanol, Rohrzucker, Wasser und Toluol. Nach der Methode von Bamberger[69]) konnte er dann Acetaldehyd als p — Nitro — Phenylhydrazon abscheiden. Die Ausbeute betrug 0,4917 gr. Die erhaltenen Mengen von Acetaldehyd waren so groß, daß sie eine Schmelzpunktbestimmung und Analyse erlaubten. Merkwürdig erschien jedoch, daß bei einer Temperatur von 32^0 die Bildung von Acetaldehyd unterdrückt wird. Diese Resultate waren Gegenstand schärfster Kritik seitens C. Neuberg und J. Kerb. Es erübrigt sich, auf alle Einzelheiten dieser Kritik einzugehen, nur der wichtigste Punkt sei herausgegriffen. Die genannten Autoren[70]) bestätigen zwar die objektive Richtigkeit der Angaben von S. Kostytschew[71]), bezweifeln aber in erster Linie, daß der Acetaldehyd aus dem Zucker abstamme. Sie konnten nämlich auch ohne Zuckerzusatz eine reichliche Acetaldehyd-Bildung beobachten. Zum selben Ergebnis gelangten sie, wenn sie den Zucker durch Äthylalkohol ersetzten. Einmal konnten sie sogar in einem Alkoholversuch genau soviel Acetaldehyd—p—Nitrophenylhydrazon isolieren, wie S. Kostytschew mit Traubenzucker. Daß sie bei Zuckerzusatz nicht entsprechend mehr Acetaldehyd gewannen, läßt sie zu der Annahme kommen, daß Acetaldehyd nicht aus dem Zucker stamme. Klar ist ihnen auch nicht, daß gerade bei 32^0 die Acetaldehyd-Bildung ausbleibt.

Daraufhin sah sich S. Kostytschew genötigt, seine Ergebnisse nochmals nachzuprüfen. Neuberg und Kerb[72]) haben also bei der Selbstgärung beträchtlicher Mengen Hefanol in Gegenwart von $ZnCl_2$ Acetaldehyd beobachtet. Kostytschew[73]) dagegen konnte nur bei Gegenwart von Zucker Acetaldehyd-Bildung feststellen. Trotzdem ist nach Kostytschew[74]) der Widerspruch mit den Resultaten von Neuberg und Kerb nur ein scheinbarer, denn die Selbstgärung ist nach S. Kostytschew nichts anderes, als die echte alkoholische Gärung, welche durch die Verzuckerung des vorrätigen Glykogens der Hefezellen in Gang gesetzt wird. Er untersuchte nun die Gärung von je 3 gr. Hefanol in Gegenwart und bei Abwesenheit von Zucker. Bei der Selbstgärung konnte Acetaldehyd selbst durch die empfindlichsten Reaktionen nicht nachgewiesen werden. Neuberg

und Kerb haben viel größere Hefemengen benützt. In einem solchen Falle führt nach S. Kostytschew die Glykogen-Vergärung zur Bildung einer nicht zu unterschätzenden Menge von Acetaldehyd. Bei der Zuckervergärung ist aber nach S. Kostytschew eine weit größere Acetaldehyd-Ausbeute vorhanden. Neuberg und Kerb[75]) beharren jedoch auf ihrer früheren Auffassung. Einmal vermögen sie den Anschauungen, die S. Kostytschew[76]) vom Wesen der Selbstgärung entwickelt, nicht beizupflichten, fürs andere ist ihnen nach ihrer neuen Versuchsanordnung die Acetaldehyd-Bildung aus Zucker nicht gerechtfertigt. Auch durch erneute Erklärung S. Kostytschews[77]) konnten C. Neubergs und J. Kerbs[78]) Bedenken nicht zerstreut werden. Damit ist allerdings nicht gesagt, daß die Methode von S. Kostytschew fehlerhaft sei.

Später ist es auch C. Neuberg und E. Reinfurth[79]) gelungen, durch Anwendung der neutralen schwefligsauren Salze die Acetaldehydstufe bei der alkoholischen Gärung festzulegen und gute Ausbeuten zu erzielen. So gelang es ihnen z. B. durch Zusatz von Dinatriumsulfit bis zu 18,9 % vom Gewicht des umgesetzten Zuckers in Acetaldehyd überzuführen, was also 73,45 % (nach ihrer Berechnung) des theoretisch möglichen Betrages ausmacht. Von den vielen Versuchen sei einer angeführt: „148 gr. Traubenzucker, in 800 ccm Wasser gelöst, wurden mit den Nährsalzen und dem kleinen Quantum von 9 gr. Hefe XII in Angärung versetzt. Alsdann wurden 126 gr. Natriumsulfit, gelöst in 800 ccm Wasser, hinzugemischt. Am 6. Tag war die Gärung bei 32° beendet, Reduktionsvermögen = 0, Polarisation = −0,1%. Die mittlere Aldehydausbeute betrug:

a) nach der Titration 22,19 gr. = 14,99 %
b) nach der Sulfatbestimmung 24,61 gr. = 16,63 %

Durch die Isolierung von Acetaldehyd bei der Vergärung von Zucker in Gegenwart von sekundärem Sulfit in einer Menge, die 73,45 % der Theorie ausmacht, glauben Neuberg und Reinfurth auf alle Fälle bewiesen zu haben, daß bei der alkoholischen Zuckerspaltung die Aldehydfase durchlaufen wird. Ebenso ließ sich beim Zuckerabbau im Tierkörper der Acetaldehyd als Zwischenstufe festlegen. Schon 1920 haben C. Neuberg und E. Reinfurth[80]) in dem Dimedon ein zuverlässiges Abfangmittel für intermediär entstehenden Acetaldehyd angegeben. Dieses Abfangsverfahrens, das in einer Kondensation des benutzten Reagenzes (des Dimethylhydroresorcins) mit dem schnell vergänglichen Gebilde des Acetaldehyds besteht, bediente sich Julius Hirsch[81]). Dieses Dimethylhydroresorcin (Abkürzung lautet Dimedon) ist eine lipoidlösliche Substanz und damit wahrscheinlich zum Eindringen in tiefere Protoplasmaschichten befähigt, worauf Neuberg und Reinfurth schon hingewiesen haben. Bei Verfolgung der physiologischen Oxydation in der Muskulatur in Gegenwart des Abfangmittels Dimedon ist es J. Hirsch gelungen,

das Kondensationsprodukt von Dimedon mit Acetaldehyd, das Aldomedon, zu isolieren.

Wohl glaubte man schon früher Acetaldehyd im Tierkörper nachgewiesen zu haben, z. B. Gaube[82]), de Groot[83]), Frieber[84]), Bierry und Portier[85]). Jedoch weisen nach J. Hirsch[86]) die dabei erzielten Farbreaktionen bloß mit geringerer oder größerer Wahrscheinlichkeit auf Aldehyd hin.

J. Hirsch verarbeitete bei seinen Versuchen 800 gr. Froschmuskulatur. Er erhielt 0,3 gr. Aldomedon, das als Rohprodukt bei 136—140° schmolz und nach Umkristallisieren aus verdünntem Methylalkohol den Schmelzpunkt 139—140° zeigte.

Mit dem Dimedon-Verfahren hatte J. Hirsch[87]) seine Versuche fortgesetzt und konnte von gesteigerten Ausbeuten des Acetaldehyds berichten. Somit kommt er zu dem Schluß, daß der Abbau der Kohlehydrate im Tierkörper seinen Weg über die Stufe des Acetaldehyds nimmt.

Versuche, die C. Neuberg und A. Gottschalk[88]) mit lebensfrischem Leberbrei von Warmblütern (Meerschweinchen) ausführten, ergaben quantitativ bestimmbare Mengen von Acetaldehyd, im Durchschnitt 4,88 mgr. (Mittel aus 4 Versuchen). (Acetaldehyd berechnet auf 100 gr. Leberbrei.)

Fügt man zu dieser Leberzellensuspension unter Einhaltung der gleichen Bedingungen abbaufähige Kohlehydrate hinzu, so steigt die Ausbeute von Acetaldehyd. Gottschalk und Neuberg verwendeten Glykogen, d—Glucose, d—Fructose, Hexosediphosphorsäure und Mannit als Zusatz.

Die Steigerung an Acetaldehyd lag zwischen 35 % (für Mannit) und 170 % (für Glykogen). Als Abfangmittel diente hierbei sekundäres Calciumsulfit.

A. Gottschalk[89]) gelang es nachzuweisen, daß durch Zusatz von Brenztraubensäure die Steigerung der Acetaldehyd-Bildung bis zu 160 % ausmachen kann, wie folgender Versuch zeigen soll.

a) **ohne** Brenztraubensäure:

68 g Leberbrei (Kaninchen) und 200 ccm 0,9 %ige NaCl-lösung und 3,0 g Calciumsulfit und 0,8 g Rivanol bei 40°.
Nach 24 Stunden Destillation über 5 g $CaCO_3$.
Redestillation über 5 Tropfen verdünnter H_2SO_4
Redestillation über 0,3 g Pb CO_3
Vorlage 2 ccm Wasser
Destillat 22,0 ccm
Acetaldehyd = 1,16 mg.

b) **mit** Brenztraubensäure:

68 g Leberbrei (Kaninchen) und (10 ccm m/Brenztrauben-

säure + 10 ccm m Na_2SO_3 + 10 ccm Acetat-Gemisch + 170 ccm Aquadest. + 1,8 NaCl.) + 0,8 g Rivanol bei 40°. Nach 24 Stunden: Volumen des Ansatzes 260 ccm. neutralisiert und Zusatz von 20 ccm m $BaCl_2$-Lösung, sodann Filtration.

200 ccm Filtrat werden über 5 g $CaCN_3$ destilliert. Destilliat 22 ccm. Acetaldehyd 3,0 mg.

A. Bornstein und H. Mayer[90]) konnten die oben genannten Ergebnisse von C. Neuberg und A. Gottschalk bestätigen, wenn sie ebenfalls Meerschweinchenleber verwandten. Dagegen fanden sie, daß Hundelebern, die nach Angaben von C. Neuberg und A. Gottschalk[91]) vorbehandelt wurden, nur eine Spur von Glykogen enthalten und keinen Aldehyd bilden. Auch die Zugabe von Traubenzucker ergab keinerlei Bildung von Acetaldehyd.

A. Bornstein und R. Pantke[92]) haben nun Traubenzucker und Glykogen kombiniert zugesetzt, wobei sie eine stärkere Acetaldehyd-Bildung als bei Glykogen **allein** beobachten konnten. Im Mittel bilden 1/2 g Glykogen, 0,28 mg Aldehyd, 1/2 g Glykogen + 1/2 g Traubenzucker, 0,41 mg Aldehyd, Traubenzucker **allein, keinen** Aldehyd. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei der Kombination von Fruchtzucker + Glykogen. Weiterhin wurde zu Hundeleberbrei brenztraubensaures Natrium zugesetzt und dieses ergab die weitaus größten Aldehydmengen, im Mittel 3,45 mg, also ungefähr 1000 % des Mittels der Glykogen-Versuche.

Es ist somit zwar die Bildung von Acetaldehyd aus zugesetzten Kohlehydraten sowie die karboxylatische Spaltung der Brenztraubensäure als bewiesen anzusehen, jedoch lassen es die ausserordentlich kleinen Ausbeuten sehr wahrscheinlich erscheinen, daß der Hauptweg des Abbaues der Brenztraubensäure über einen bisher noch unbekannten Weg erfolgt.

E. Tœnniessen und E. Brinkmann[93]) stellten nun Versuche an über die weitere Umwandlung von Brenztraubensäure beim oxydativen Abbau der Kohlehydrate im Säugetiermuskel. Dabei konnten sie die Bildung von Bernsteinsäure aus Brenztraubensäure experimentell wahrscheinlich machen. Die Versuche wurden als Durchströmungsversuche an überlebenden Extremitäten ausgeführt. Die Durchströmungsflüssigkeit und die Muskulatur wurden getrennt aufgearbeitet. Die Versuchsergebnisse sind im Mittel (von 4 Versuchen) folgende:

1. Durchströmungen mit Brenztraubensäure und ständiger Sauerstoffzufuhr. Angewandt wurden im Mittel 665 ccm Durchströmflüssigkeit, wiedergewonnen wurden 278 ccm Durchströmflüssigkeit; zugesetzt wurden 2,08 g Brenztraubensäure, wiedergefunden wurden am Schluß des Versuches etwa 0,38 g. Ameisensäure entstand weniger als 5 mg, Bernsteinsäure und Essigsäure waren nicht

nachweisbar. Ganz ähnlich sind die Ergebnisse bei der Aufarbeitung der Muskulatur, nur entstanden im Durchschnitt 21 mg Ameisensäure. Essigsäure und Bernsteinsäure waren wieder nicht aufzufinden

Die zweite Versuchsreihe wurde unter denselben Bedingungen wie die erste durchgeführt, nur mit **beschränkter** Sauerstoffzufuhr (alle 20 Minuten Sauerstoff zugeführt). Bei der Aufarbeitung der Durchströmungsflüssigkeit ergaben sich fast genau dieselben Resultate wie bei Versuchsreihe 1. Dagegen ergab die Aufarbeitung der Muskulatur das entscheidende Ergebnis. Untersucht wurden 2000 g Muskulatur, in die 4 g Brenztraubensäure übergegangen waren, erhalten wurden 86 mg Bernsteinsäure und 69,21 mg Ameisensäure. In einer weiteren Untersuchung fanden sie 106 mg Bernsteinsäure und 65,27 mg Ameisensäure bei Verarbeitung von 2080 g Muskulatur und 3,54 g Brenztraubensäure. Essigsäure war nicht nachweisbar. In Kontrollversuchen o h n e Brenztraubensäure mit b e s c h r ä n k t e r Sauerstoffzufuhr konnten weder Essigsäure noch Bernsteinsäure gefunden werden und die Menge der gebildeten Ameisensäure war geringer wie in den Hauptversuchen.

Weiter konnten E. Tœnniessen und E. Brinkmann feststellen, daß im Kaninchenfell eine Staphylokokkenart vorkommt, welche, wie auch in Versuchen bewiesen, trotz Rivanol-Zusatzes ziemlich reichlich sich vermehren und die Brenztraubensäure in Essigsäure und Ameisensäure spalten. Ist dagegen das Gärgut steril, so tritt selbst nach 14 Tagen keine Spaltung ein. Ausserdem wurden Durchströmungsversuche mit Essigsäure angestellt, wobei nie Essigsäure festgestellt werden konnte. Es scheint ihnen daher für den Muskel mit Sicherheit ausgeschlossen, daß Brenztraubensäure über Essigsäure in Bernsteinsäure übergeht.

Auch glauben sie das Auftreten von Acetaldehyd als Zwischenprodukt aus Brenztraubensäure ablehnen zu müssen. Es wäre wohl nach ihrer Ansicht denkbar, daß Brenztraubensäure zunächst in Acetaldehyd und CO_2 zerfällt, ein Vorgang, der bei der Hefe bereits bewiesen ist. Die weitere Reaktionsfolge von Acetaldehyd ab kann aber nicht über Essigsäure führen, weil, wie bereits oben angeführt, der Muskel aus Essigsäure keine Bernsteinsäure bildet.

Als zweiten Grund geben sie an, daß im Fell des Kaninchens und Meerschweinchens eine Staphylokokkenart vorkommt, welche Brenztraubensäure karboxylatisch sehr energisch in Acetaldehyd und CO_2 zerlegt. Gelangen diese Kokken in das Gärgut, so täuschen sie eine karboxylatische Wirkung der zugesetzten Gewebe vor. Rivanol genügt nicht um diese Wirkung der Kokken auszuschalten. E. Tœnniessen und E. Brinkmann glauben deshalb, daß der bisher beobachtete Acetaldehyd nur durch Wirkung dieser Kokken aus Brenztraubensäure stammt.

Die beiden Autoren ziehen nun daraus den Schluß, daß Brenztraubensäure beim Abbau durch die tierische Zelle nicht in Acetaldehyd oder Essigsäure übergeht, sondern sie stellen folgende Hypothese auf: Essigsäure polymerisiert sich zu Diketoadipinsäure und diese wird hydrolytisch gespalten in Bernsteinsäure und 2 Moleküle Ameisensäure. Auf Grund dieser Befunde glaubt er nun ein neues Abbauschema aufstellen zu können, welches aus nachfolgendem Schema ersichtlich ist:

Somit sind lediglich bei der alkoholischen Gärung die Zwischenprodukte bis zum Endprodukt festgelegt, beim Zuckerabbau im **tierischen** Organismus sind sie nur bis zur Brenztraubensäure sicher bekannt, der weitere Weg ist zunächst noch hypothetisch, resp, mehr oder weniger wahrscheinlich.

Die nachfolgende Tabelle möge noch eine kleine Übersicht bringen über die bis jetzt aufgefundenen Zwischenprodukte beim Abbau von Hexosen durch die lebende Zelle mit Angabe der Erforscher und des Zeitpunktes, an dem diese Produkte zum ersten Male isoliert wurden.

„Je tiefer man in das Gärungsproblem hineinblickt, umso mehr staunt man darüber, wie kompliziert es ist, sodaß die Gärung mit Recht als ein einfaches Vorbild des Lebens selbst angesehen werden kann“[94]).

Schema.

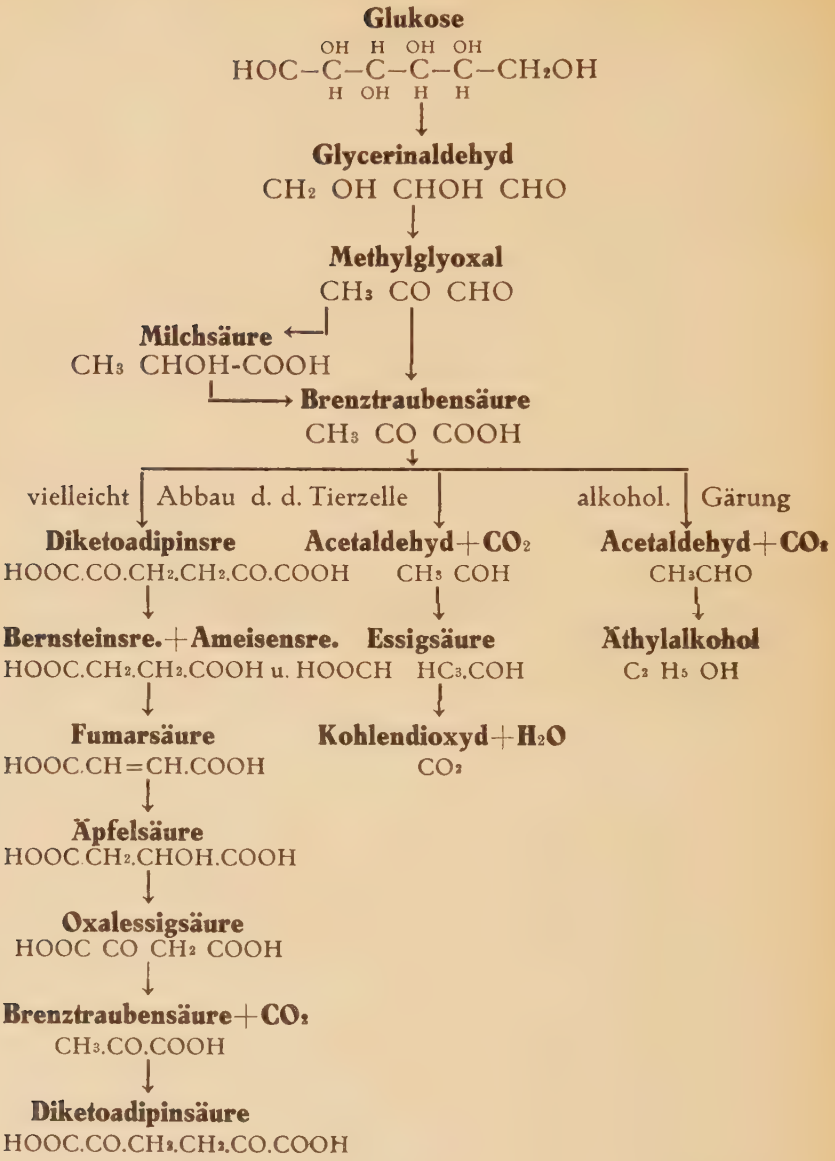
Glukose
OH H OH OH
HOC–C–C–C–C–CH₂OH
H OH H H
Glycerinaldehyd
CH₂ OH CHOH CHO
Methylglyoxal
CH₃ CO CHO
Milchsäure
CH₃ CHOH-COOH
Brenztraubensäure
CH₃ CO COOH
vielleicht
Abbau d. d. Tierzelle
alkohol. Gärung
Diketoadipinsre
HOOC.CO.CH₂.CH₂.CO.COOH
Acetaldehyd + CO₂
CH₃ COH
Acetaldehyd + CO₂
CH₃CHO
Bernsteinsre. + Ameisensre.
HOOC.CH₂.CH₂.COOH u. HOOCH
Essigsäure
HC₃.COH
Äthylalkohol
C₂ H₅ OH
Fumarsäure
HOOC.CH=CH.COOH
Kohlendioxyd + H₂O
CO₂
Äpfelsäure
HOOC.CH₂.CHOH.COOH
Oxalessigsäure
HOOC CO CH₂ COOH
Brenztraubensäure + CO₂
CH₃.CO.COOH
Diketoadipinsäure
HOOC.CO.CH₂.CH₂.CO.COOH

Tabelle.

Zwischenprodukt	Abbau durch	Erforscher	Zeit	Literatur
I. Methylglyoxal	Milchsäuregärung	S. Kostytschew und S. Soldatenkov	1927	H.S. 168 (124)
	alk.Gärung	Kostytsch. u. Soldatenk.	1927	H.S. 168 (128)
	alk.Gärung	C. Neuberg, M. Kobel	1928	B.Z. 203 (463)
	Blut (von Glukose)	H. K. Barrenscheen	1927	B.Z. 193 (105)
	Organe (v. Glukose)	M. Vogt	1929	B.Z. 211 (17)
	Blutkörper. (v. Glukose)	E. Widmann	1929	B.Z. 216 (479)
II. Brenztraubensre.	Milchsäuregärung	S. Kostytschew und S. Soldatenkov	1927	H.S. 168 (124)
	alkohol. Gärung	S. Kostytschew und S. Soldatenkov	1928	H.S. 176 (287)
	im Tierkör. aus versch. Subst.	A. Hahn W. Haarmann und E. Fischbach	1928	Z. Biol. 88 (89, 92)
	a. hexose diphosphors.	Hahn, Haarmann und Fischbach	1930	Z. Biol. 90 (231)
III. Acetaldehyd	alk.Gärung	S. Kostytschew	1912	H.S. 79 (130)
	alk.Gärung	C. Neuberg, E. Reinfurth	1918	B.Z. 89 (365)
	im Tierkör.			
	α Kaltblüt.	J. Hirsch	1921	B.Z. 117 (113)
	ß. Warmbl.	C. Neuberg und A. Gottschalk	1924	B.Z. 146 (164)

Literatur-Verzeichnis.

1) E. Buchner, B. 43 (1778, 1910)
2) S. Kostytschew, Chem. Ztrbl. 1930 I (1319)
3) A. Wohl, B. Z. 5 (45, 1907)
4) Gustav Emden, B. Z. 45 (108, 1912)
5) G. Emden, E. Schmitz, M. Wittenberg H. S. 88 (210, 1913)
6) P. Boysen-Jensen, Dissertation, Kopenhagen 1910
7) Franzes Chick, B. Z. 40 (479, 1912)
8) „ „ „ „ „ „
9) E. Buchner und M. Meisenheimer, B. 43 (1779, 1910)
10) A. Lebedew, B. 44 (2932, 1911)
11) Harden und Young, B. Z. 40 (458, 1912)
12) O. L. Fischer und C. Taube, B. 57 II (1502, 1924)
13) A. Wohl, v. Lippmann, Chemie der Zuckerarten
14) Nef, Ann. 335 (254, 1904)
15) S. Kostytschew und S. Soldatenkov, H. S. 168 (128, 1927)
16) C. Neuberg und M. Kobel, B. Z. 191 (472, 1927)
17) S. Kostytschew und S. Soldatenkov, H. S. 176, (287, 1928)
18) C. Neuberg und M. Kobel, B. Z. 203 (463, 1928)
19) „ „ „ „ 210 (466, 1929)
20) S. Kostytschew und S. Soldatenkov, H. S. 168 (124, 1927)
21) C. Neuberg und M. Kobel, B. Z. 207 (232, 1929)
22) A. Wohl in E. O. v. Lippmann, Chemie d. Zuckerarten S. 1891/1904
23) C. Neuberg, Oppenheimers Handb. d. Biochemie 1 (225, 1909)
24) E. Tœnniessen, H. S. 133 (158, 1923)
25) Denigès C. R. Bd. 148 (172, 422, 1909)
26) E. Tœnniessen und W. Fischer, H. S. 161 (254, 1926)
27) Neuberg und Kansky, Chem. Ber. Bd. 41 (956, 1908)
und Neuberg, Bioch. Zentralbl. Bd. 49 (504, 1913)
28) H. K. Barrenscheen, B. Z. 193 (105, 1927)
29) C. Neuberg B. Z. 51 (484, 1913)
30) M. Vogt, B. Z. 211 (20, 1929)
31) H. K. Barrenscheen, B. Z. 193 (105, 1927)
32) C. Neuberg und M. Kobel, B. Z. 193 (464, 1927/28)
33) E. Tœnniessen, H. S. 133 (158, 1923)
34) H. K. Barrenscheen, B. Z. 193 (105, 1927)
35) M. Vogt, B. Z. 211 (17, 1929)
36) E. Widmann B. Z. 216 (479, 1929)
37) E. Widmann und E. Schneider, B. Z. 224 (157, 1930)
38) O. Neubauer, H. S. 70 (350, 1910)
39) Fernbach und Schœn, Cpt. rend. 157 (1478, 1913)
158 (1719, 1914)
170 (764, 1920)
40) Fernbach und Schœn, Cpt. rend. 170 (764, 1920)
41) M. v. Grab, B. Z. 123 (69, 1921)

42) J. Kerb, B. 52 (1795, 1919)
43) A. Lebedew, H. S. 132 (291, 1924)
44) C. Neuberg und E. Färber, B. Z. 78 (239, 1917)
45) S, Kostytschew und L. Frey, H. S, 146 (279, 1925)
46) G. Klein und W. Fuchs, B. Z. 213 (40, 1929)
47) M. v. Grab, B. Z. 123 (69, 1921)
48) O. Döbner, Ann. 242, 265 (1887)
49) G. Klein und W. Fuchs, B. Z. 213 (40, 1929)
50) A. Lebedew, H. S. 132 (292, 1924) Anm. 1
51) S. Kostytschew und S. Soldatenkov, H. S. 176 (289, 1928)
52) „ „ „ „ 176 (287, 1928)
53) W. Fuchs und G. Klein, B. Z. 213 (40, 1929)
54) „ „ „ „ „ „ „
55) S. Kostytschew und S. Soldatenkov, H. S. 168 (128, 1927)
56) P. Eliasberg, H. S. 189 (255, 1930)
57) S. Kostytschew, B. Z. 217 (421. 1929)
58) S. Kostytschew und S. Soldatenhov, H. S. 176 (287, 1928)
59) P. Eliasberg, H. S. 189 (254, 1930)
60) C. Neuberg und M. Kobel, B. Z. 216 (493, 1929)
61) S. Kostytschew und S. Soldatenkov, H. S. 168 (124, 1927)
62) S. Kostytschew, W. Qualadse, P. Eliasberg, H. S. 188 (127, 1930)
63) P. Eliasberg, H. S. 188 (127, 1930)
64) A. Hahn, W. Haarmann, E. Fischbach, Z. Biol. 88 (89—92,1928)
„ 88 (516, 1929)
65) A. Hahn, W. Haarmann, „ 90 (231. 1930)
66) S. Kostytschew, H. S. 79 (130, 1912)
67) Löb, Zeitschr. v. Elektrochem. Bd. 13 (511, 1913)
68) S. Kostytschew, H. S. 79 (130, 1912)
69) Bamberger. B. Bd. 32 (1806, 1899) Hyde, ebenda S. 1813
70) C. Neuberg und J. Kerb, B. Z. 43 (494, 1912)
71) S. Kostytschew, H. S. 79 (130, 1912)
72) Neuberg und Kerb, B. Z. 43 (494, 1912)
73) S. Kostytschew, H. S. 79 (130, 1912)
74) „ „ 83 (93, 1912)
75) C. Neuberg und J. Kerb, B. Z. 58 (158, 1913)
76) S. Kostytschew, H. S. 83 (96, 1913)
77) „ B. Z. 64 (237, 1914)
78) J. Kerb und C. Neuberg, B. Z. 58 (158, 1913)
79) C. Neuberg und E. Rheinfurth, B. Z. 89 (365, 1918)
80) „ „ „ „ 106 (281, 1920)
81) J. Hirsch, B. Z. 117 (113, 1921)
82) Gaube, C. r. soc. biol. 41 (383, 1892)
83) de Groot, Dissertation, Freiburg 1898
84) Frieber, Dissertation, Tübingen 1913
85) Bierry und Portier, C. r. 166, (1055, 1918)
86) J. Hirsch, B. Z. 117 (115, 1921)

87) J. Hirsch, B. Z. 134 (415, 1923)
88) C. Neuberg und A. Gottschalk, B. Z. 146 (164, 1924)
89) A. Gottschalk, B. Z. 146 (583, 1924)
90) A. Bornstein und H. Mayer, B. Z. 225 (318, 1930)
91) C. Neuberg und A. Gottschalk, B. Z. 146 (164, 1924)
92) A. Bornstein und R. Pantke, B. Z. 225 (321, 1930)
93) E. Tœnniessen und E. Brinkmann, H. S. 187 (138, 1929)
94) A. Lebedew, H. S. 132 (296, 1924).

Zu besonderem Dank fühle ich mich verpflichtet, Herrn Prof. Dr. A. Hahn für die wertvollen Anregungen und die Übernahme des Referats sowie Herrn Geheimrat Prof. Dr. O. Frank für die Übernahme des Correferats.